

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Tinjauan Tentang Biji labu kuning (*Curcubita moschata*)

Labu kuning merupakan tanaman yang berasal dari Benua Amerika terutama di Negara Peru dan Meksiko. Terdapat lima spesies labu kuning yang umum dikenal, yaitu *Curcubita maxima Duchenes*, *Curcubita ficifolia bouche*, *Curcubita mixta*, *Curcubita moschata Duchenes* dan *Curcubita pipo L* (Brotodjo,2010). Labu kuning (*C. moschata*) merupakan jenis tanaman sayuran menjalar dari famili *Curcubitaceae* yang setelah berubah akan langsung mati. Bijinya berbentuk pipih dengan kedua ujungnya berbentuk runcing (Patel, 2013).

##### 2.1.1. Taksonomi Biji Labu Kuning

Kingdom : Plantae  
Divisi : Spermatophyta  
Sub divisi : Angiospermae  
Kelas : Dicotyledonae  
Ordo : Cucurbitales  
Familia : *Curcubitaceae*  
Genus : *Curcubita*  
Species : *Curcubita moschata* Duch (Hutapea,J.R,1994)

#### 2.1.1.1.Kandungan Biji Labu Kuning

Biji labu kuning (*Curcubita mosschata*) mengandung senyawa alkaloid, saponin, steroid, triterpenoid, kurkubitasin, lesitin, resin, stearin, senyawa fitosterol, asam lemak, squalen,  $\beta$ -tokoferol, tirosol, asam vanilat, vanillin, luteolin, asam sinapat (Latief,2013; Patel,2013), dan mengandung 37.8 - 45.5 % minyak, 25.2-37.0 % protein (Fu *et al.*, 2006; Abd. El-Azis & Abd. El-Kalek, 2011; Debnath, *et al.*, 2010).

#### 2.2.Fitosterol

Fitosterol merupakan steroida (sterol) yang terdapat didalam tanaman dan mempunyai struktur yang mirip dengan kolesterol, tetapi fitosterol mengandung gugus etil pada rantai cabangnya. Pada tanaman terdapat lebih dari 40 senyawa sterol yang didominasi oleh tiga bentuk utama dari fitosterol, yaitu beta-sitosterol, campesterol, dan stigmasterol. Fitosterol steroida (sterol) yang terdapat didalam tanaman dan mempunyai struktur yang mirip dengan kolesterol tetapi, fitosterol mengandung gugus etil ( $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ) pada rantai cabang (Silalahi,2006). Sifat kelarutan fitosterol yakni sukar larut dalam air, larut dalam etanol dan larut dalam pelarut organik seperti n- heksan dan etil asetat.

## 2.2.1. Jenis – jenis fitosterol

### 2.2.1.1. Stigmasterol

Stigmasterol merupakan sebuah senyawa yang termasuk ke dalam golongan steroid. Lebih spesifiknya, senyawa ini masuk ke dalam golongan fitosterol sebagai bagian dari sterol. Jadi bisa dikatakan bahwa stigmasterol merupakan senyawa turunan dari fitosterol sedangkan fitosterol merupakan senyawa turunan dari sterol. Secara struktur, stigmasterol sebagai salah satu jenis fitosterol yang memiliki bentuk yang hampir sama dengan kolesterol pada umumnya namun memiliki fungsi yang berlawanan. Bahkan stigmasterol sebagai bagian dari fitosterol memiliki peran melawan dampak buruk kolesterol di dalam tubuh.

Manfaat Stigmasterol untuk kesehatan, yakni :

- Pengaturan Hormon pada Perempuan
- Mencegah Perkembangan Sel Kanker
- Mencegah Aterosklerosis
- Mencegah Penyakit Jantung
- Meningkatkan Sistem Imun
- Mencegah Penyakit Stroke
- Antioksidan
- Mencegah Penyakit Diabetes

### 2.2.1.2. $\beta$ -sitosterol

Beta sitosterol merupakan salah satu jenis kelompok sterol yang terdapat pada berbagai jenis tanaman. Beta sitosterol juga merupakan bagian dari sterol yang sering disebut sitosterol. Beta sitosterol dalam tanaman ditemukan dalam

warna putih. Jika dilihat dari struktur kimia maka beta sitosterol terlihat sangat mirip dengan kolesterol namun fungsinya sangat berbeda. Manfaat Betasitosterol untuk Kesehatan, yakni:

- Menjaga Kesehatan Prostat

Beta sitosterol sangat baik untuk menjaga kesehatan prostat termasuk mengurangi resiko kanker prostat. Cara kerja beta sitosterol adalah dengan mengurangi volume urin termasuk zat residu dalam urin namun sama sekali tidak menyebabkan gangguan ukuran prostat.

- Mengendalikan Kolesterol Tinggi dalam Tubuh

Beta sitosterol akan bekerja untuk menurunkan kolesterol dengan menghambat kerja kolesterol. Akibatnya kadar kolesterol dalam tubuh akan menurun, serum kolesterol akan menurun dan meningkatkan kadar LDL atau HDL dalam tubuh.

- Menjaga Sistem Kekebalan Tubuh

Beta sitosterol sangat baik untuk menjaga sistem kekebalan tubuh dengan mencegah berbagai penyakit peradangan. Beta sitosterol akan bekerja untuk meningkatkan aktifitas sel darah putih sehingga ekebalan tubuh akan meningkat. Beta sitosterol sangat baik untuk orang yang mengalami penurunan kekebalan tubuh karena penyakit jangka panjang, stress, dan orang yang mudah sakit.

- Menurunkan Resiko Penyakit Kanker

Semua jenis beta sitosterol yang ditemukan alami pada sumber makanan bisa membantu menurunkan resiko penyakit kanker. Beta sitosterol sangat baik untuk menurunkan resiko kanker usus besar dan

juga kanker prostat. Bahkan beta sitosterol bisa efektif untuk meningkatkan kesehatan bagi penderita kanker darah.

- Mencegah Diabetes dan Menjaga Kadar Gula Darah

Beta sitosterol akan bekerja untuk menjaga kadar gula dalam darah dan meningkatkan insulin untuk penderita diabetes. Kondisi ini menguntungkan untuk penderita diabetes tipe 2 yang sering bermasalah dengan insulin. Beta sitosterol akan membantu pelepasan kadar insulin namun menjaga kadar gula darah menjadi lebih stabil. Beta sitosterol juga bisa membantu konversi karbohidrat menjadi kadar gula dalam darah sehingga sangat baik untuk penderita diabetes usia lanjut.

- Mencegah Peradangan dalam Tubuh

Kondisi peradangan bisa terjadi pada berbagai bagian tubuh termasuk jaringan dan organ tubuh. Beta sitosterol sangat penting untuk mencegah berbagai peradangan, meningkatkan aktifitas usus dan menyembuhkan luka ringan.

- Menurunkan Kolesterol dalam Tubuh

Beta sitosterol bisa menjadi obat untuk menurunkan kadar kolesterol yang terlalu tinggi. Beta sitosterol akan bekerja untuk menurunkan tingkat kolesterol secara alami, menyerap kolesterol dalam usus, dan menjaga sistem aliran darah. Beta sitosterol akan menguntungkan untuk orang yang mengalami masalah kolesterol. Sehingga beta sitosterol juga akan menurunkan resiko penyakit jantung, stroke, dan penyakit arteri karena kolesterol.

- Menurunkan Aktifitas Bakteri, Jamur dan Virus

Beta sitosterol baik untuk menurunkan aktifitas bakteri, jamur, dan virus yang sering menyebabkan penyakit. ketika tubuh terkena bakteri, jamur, dan virus maka tubuh anda menjadi lebih mudah terserang penyakit. Beta sitosterol akan meningkatkan kekebalan tubuh dengan meningkatkan aktifitas sel darah putih.

- Mengurangi Efek Stres dalam Tubuh

Beta sitosterol baik untuk menurunkan efek stress dalam tubuh. Stres bisa menyebabkan gangguan seperti emosi dan kondisi fisik. Hal ini bisa menyebabkan berbagai penyakit pada tubuh. Beta sitosterol akan membantu tubuh dalam menyerap nutrisi dari berbagai makanan. Kemudian aktifitas metabolisme dalam tubuh akan meningkat sehingga beta sitosterol akan menurunkan efek stress berlebihan.

#### 2.2.1.3. Campesterol

Campesterol merupakan salah satu jenis senyawa yang tergolong ke dalam asam lemak tak jenuh. Sebagai salah satu jenis asam lemak tak jenuh, campesterol bisa ditemukan dari berbagai jenis sumber makanan nabati. Seperti asam lemak tak jenuh lainnya, campesterol merupakan jenis lemak yang baik bagi tubuh. Asam lemak tak jenuh juga sering disebut lemak baik dan memiliki manfaat yang berlawanan dengan asam lemak jenuh dan asam lemak trans di dalam tubuh.

Campesterol merupakan senyawa fitosterol yang menjadi bagian dari penyusun lemak. Jenis asam lemak tak jenuh ini dapat dijumpai dari berbagai jenis makanan, seperti sayuran, buah-buahan, kacang – kacang, serta berbagai jenis biji – bijian. Manfaat campesterol bagi kesehatan, yakni :

- Mencegah Plak pada Pembuluh Darah

Sebagai salah satu jenis asam lemak tak jenuh, campesterol memiliki manfaat utama untuk mengusir asam lemak jenuh yang menempel pada dinding pembuluh darah. Lemak jenuh atau yang sering disebut dengan kolesterol jahat atau *Low Density Lipoprotein (LDL)* merupakan lemak yang menyebabkan pembuluh darah semakin sempit. Menyempitnya pembuluh darah disebabkan oleh asam lemak jenuh yang menempel pada dinding arteri dan menyebabkan plak sehingga lama kelamaan pembuluh darah akan menyempit. Sebagai salah satu asam lemak tak jenuh, campesterol akan mengusir dan mengurangi plak di area dinding pembuluh darah sehingga darah bisa mengalir dengan lancar.

- Mencegah Tekanan Darah Tinggi

Pembuluh darah yang semakin sempit menyebabkan aliran darah terhambat. Akibatnya, jantung akan bekerja lebih cepat untuk memompa darah agar darah bisa dialirkan dengan optimal ke seluruh tubuh. Alhasil, tekanan darah akan meningkat. Mengonsumsi makana yang mengandung ampesterol ternyata efektif untuk mengusir lemak jahat yang menempel pada

pembuluh darah. Kondisi tersebut akan membuat darah lebih mudah mengalir serta tekanan darah akan kembali normal.

- Mencegah Penyakit Jantung

Salah satu dampak menempelnya lemak jahat pada pembuluh darah akan menyebabkan penyumbatan pada pembuluh darah arteri. Akibatnya, jantung tidak memperoleh suplai darah dan oksigen secara cukup. Jika hal tersebut terjadi jantung akan mengalami masalah hingga menyebabkan penyakit jantung coroner. Seperti yang telah dijelaskan, asupan campesterol dapat mengurangi plak pada pembuluh darah, sehingga penyumbatan pembuluh darah arteri dapat dihindari. Dengan kata lain penyakit kardiovaskuler seperti penyakit jantung coroner dapat dicegah.

- Meningkatkan Kadar HDL (*High Density Lipoprotein*)

Sebagai salah satu dampak menurunnya lemak jahat (LDL) di dalam pembuluh darah, lemak baik atau yang sering disebut dengan HDL (*High Density Lipoprotein*) akan mengalami peningkatan. Bahkan berdasarkan penelitian, proses penurunan kadar LDL di dalam tubuh akan diikuti dengan proses peningkatan kadar HDL di dalam tubuh.

- Membantu Transport Vitamin

Beberapa jenis vitamin membutuhkan lemak agar bisa larut dan diserap oleh sel – sel di dalam tubuh. Beberapa jenis vitamin yang larut di dalam lemak seperti vitamin A, D,E,dan K sudah



tentu membutuhkan peran lemak di dalam tubuh agar bisa terurai dan diserap secara optimal oleh tubuh. Dengan kata lain, campesterol sebagai salah satu bagian dari asam lemak tak jenuh berguna untuk membantu transport berbagai jenis vitamin tersebut.

- Berperan Dalam Produksi Hormon

Manfaat lain dari campesterol adalah ikut berperan dalam proses produksi hormone. Sebagai salah satu bagian dari asam lemak tak jenuh, campesterol juga ikut berperan dalam proses tersebut.

- Meningkatkan Penyerapan Sari Makanan pada Usus

Menurut penelitian, campesterol ternyata juga berdampak pada peningkatan penyerapan sari makanan pada dinding usus. Kondisi tersebut mungkin saja terjadi karena campesterol merupakan salah satu jenis asam lemak tak jenuh yang memiliki manfaat memecah beberapa jenis vitamin. Vitamin terpecah menjadi molekul – molekul kecil lebih mudah diserap oleh dinding usus untuk disebarkan ke seluruh sel – sel di dalam tubuh.

### 2.3. Tinjauan Tentang Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hamper semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang terisi diperlakukan sedemikian sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI,1995). Ekstraksi adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah dan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan larut. Bahan mentah yang berasal dari tumbuh – tumbuhan atau hewan tidak perlu diproses lebih lanjut kecuali dikumpulkan atau dikeringkan. Tiap – tiap bahan mentah dibuat ekstrak , tidak mengandung hanya satu unsur saja tetapi berbagai macam unsur, tergantung pda obat yang digunakan dan kondisi dari ekstraksi (Ansel,1989).

#### 2.3.1. Metode Ekstraksi

##### 2.3.1.1. Ekstraksi Cara Dingin

Ekstraksi cara dingin memiliki keuntungan dalam proses ekstraksi total, yaitu memperkecil kemungkinan terjadinya kerusakan pada senyawa termolabil yang terdapat pada sampel. Sebagian besar senyawa dapat terekstraksi dengan ekstraksi cara dingin, walaupun ada beberapa senyawa yang memiliki keterbatasan kelarutan terhadap pelarut pada suhu ruangan. Terdapat sejumlah metode ekstraksi, yang paling sederhana adalah ekstraksi dingin (dalam labu besar berisi biomasa yang diagitasi menggunakan stirer ), dengan cara ini bahan kering hasil gilingan diekstraksi pada suhu kamar secara berturut – turut dengan pelarut yang kepolarannya makin tinggi. Keuntungan cara ini merupakan metode ekstraksi yang mudah karena ekstrak tidak

dipanaskan sehingga kemungkinan kecil bahan alam menjadi terurai. Penggunaan pelarut dengan peningkatan kepolaran bahan alam secara berurutan memungkinkan pemisahan bahan – bahan alam berdasarkan kelarutannya (dan polaritasnya) dalam pelarut ekstraksi. Hal ini sangat mempermudah proses isolasi. Ekstraksi dingin memungkinkan banyak senyawa terekstraksi, meskipun beberapa senyawa memiliki pelarut ekstraksi pada suhu kamar (Heinrich *et al.*,2004). Berikut adalah metode ekstraksi dengan cara dingin :

- Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperature ruangan (kamar). Maserasi bertujuan untuk menarik zat – zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi dilakukan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperature ruangan atau kamar (Depkes RI,2000).

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Dasar dari maserasi adalah melarutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan, ekstraksi (difusi) bahan kandungan dari sel yang masih utuh. Setelah selesai waktu maserasi, artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam

sel dengan masuk ke dalam cairan, telah tercapai maka proses difusi segera berakhir. Selama maserasi atau proses perendaman dilakukan pengocokkan berulang – ulang. Upaya ini menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat didalam cairan. Sedangkan keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengestraksi, akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Voigh,1994). Kerugiannya adalah pengerjaannya lama dan penyarian kurang sempurna. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetic berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Depkes RI,2000;Depkes RI,1995).

- Perkolasi (Depkes RI,2000)

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru dan sempurna (*Exhaustiva eztraction*) yang umumnya dilakukan pada temperature ruangan. Prinsip perkolasi adalah dengan menempatkan serbuk simplisia pada suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Proses terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkoalsi sebenarnya (penetasan/ penampungan ekstrak), terus menerus

sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

#### 2.3.1.2. Ekstraksi Cara Panas (Depkes RI, 2000)

- Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperature titik didihnya, selama waktu tertentu dengan jumlah pelarut terbatas yang relative konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

- Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut yang relative konstan dengan adanya pendingin balik. Biomasa ditempatkan dalam wadah soklet yang dibuat dengan kertas saring, melalui alat ini pelarut akan terus direfluks. Alat soklet akan mengkosongkan isinya kedalam labu dasar bulat setelah pelarut mencapai kadar tertentu. Setelah pelarut segar melewati alat ini melalui pendingin refluks, ekstraksi berlangsung sangat efisien dan senyawa dari biomasa secara efektif ditarik kedalam pelarut karena konsentrasi awalnya rendah dalam pelarut.

Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan banyak factor. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria antara lain, murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia,

bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki, tidak mempengaruhi zat berkhasiat, serta diperbolehkan oleh peraturan (Anonim,1986).

- Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperature ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperature 40-50°C.

- Infus

Adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperature penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperature terukur 96-98°C ) selama waktu tertentu (15 – 20 menit).

- Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama (suhu lebih dari 30°C) dan temperature sampai titik didih air.

### 2.3.2. Cairan pelarut

Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, dengan demikian senyawa tersebut dapat terpisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan. Dalam hal ekstrak total, maka cairan pelarut dipilih yang melarutkan hampir semua metabolisme sekunder yang terkandung. Faktor utama pertimbangan pada pemilihan cairan penyari adalah sebagai berikut: Selektivitas, Kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut, Ekonomis, Ramah lingkungan, dan Keamanan.

### 2.4. Tinjauan Tentang uji fitokimia

Fitokimia merupakan ilmu pengetahuan yang menguraikan aspek kimia suatu tanaman. Kajian fitokimia meliputi uraian yang mencakup aneka ragam senyawa organik yang dibentuk dan disimpan oleh organisme, yaitu struktur kimianya, biosintesisnya, perubahan serta metabolismenya, penyebarannya secara alamiah dan fungsi biologisnya, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari bermacam-macam jenis tanaman. Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif suatu ekstrak kasar yang mempunyai efek racun atau efek farmakologis lain yang bermanfaat bila diujikan dengan sistem biologi atau *bioassay* (Harborne, 1987). Menurut Robinson (1991) alasan lain melakukan fitokimia adalah untuk menentukan ciri senyawa aktif penyebab efek racun atau efek yang bermanfaat, yang ditunjukkan oleh ekstrak tumbuhan kasar bila diuji dengan sistem biologis.

Pemanfaatan prosedur fitokimia telah mempunyai peranan yang mapan dalam semua cabang ilmu tumbuhan. Meskipun cara ini penting dalam semua telaah kimia dan biokimia juga telah dimanfaatkan dalam kajian biologis. Sejalan dengan hal tersebut, menurut Moelyono (1996) analisis fitokimia merupakan bagian dari ilmu farmakognosi yang mempelajari metode atau cara analisis kandungan kimia yang terdapat dalam tumbuhan atau hewan secara keseluruhan atau bagian-bagiannya, termasuk cara isolasi atau pemisahannya. Pada tahun terakhir ini fitokimia atau kimia tumbuhan telah berkembang menjadi satu disiplin ilmu tersendiri, berada diantara kimia organik bahan alam dan biokimia tumbuhan, serta berkaitan dengan keduanya. Bidang perhatiannya adalah aneka ragam senyawa organik yang dibentuk dan ditimbun oleh tumbuhan, yaitu mengenai struktur kimianya, biosintesisnya, perubahan serta metabolismesnya, penyebarannya secara ilmiah dan fungsi biologisnya (Harborne,1996)



## 2.5. Tinjauan Tentang Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan metode pemisahan komponen – komponen atas dasar perbedaan adsorbs atau partisi oleh fase diam di bawah pengaruh gerakan pelarut pengembang atau pelarut pengembang campur. Pemilihan pelarut pengembang sangat dipengaruhi oleh macam dan polaritas zat – zat kimia yang dipisahkan (Mulya, M. dan Suharman, 1995).

KLT merupakan salah satu bentuk / model dari kromatografi cair dimana sampel diaplikasikan sebagai noda atau goresan pada lapisan penjerap tipis yang dilaburkan di atas lempeng plastic, gelas, atau logam (Fried, B. and Sherma, J. 1994). KLT dapat digunakan untuk :

1. Mengetahui kemurnian suatu senyawa
2. Memisahkan dan mengidentifikasi komponen dalam suatu campuran
3. Analisis kuantitatif dari satu atau lebih komponen yang terdapat dalam sampel.

Keuntungan daripada pemakaian KLT antara lain :

1. Solvent yang digunakan sedikit
2. Polaritas dari solven dapat dirubah dan diatur dalam beberapa menit
3. Jumlah sampel yang diukur dalam satu kali pengukuran / pengembangan lebih banyak, dalam satu pelat KLT berukuran 20 x 20 cm dapat ditotolkan lebih kurang 20 titik awal.

### 2.5.1. Pelaksanaan kromatografi lapis tipis

#### 1. Lapisan tipis / pelat

Sebagai adsorben dapat digunakan silica gel, alumina, tanah diatomae, selulosa, poliamida, resin, penukar ion, sephadexs dan sebagainya. Dari berbagai adsorben tersebut yang banyak digunakan adalah silica gel, karena dapat dipakai untuk KLT adsorbs maupun partisi. Tebal lapisan berkisar antara 0,15 – 2,0 mm, tergantung pada kebutuhan. Untuk analisis umumnya 0,2 mm. untuk maksud preparative tebal lapisan  $\pm 2,0$  mm.

#### 2. Fase gerak (eluen)

Fase gerak ialah medium angkut dan terdiri atas satu atau beberapa pelarut. Gerakan ini disebabkan oleh adanya gaya kapiler. Untuk fase gerak ini digunakan pelarut yang berderajat kemurnian untuk kromatografi atau pro analisis. Jika diperlukan sistem pelarut multi komponen harus berupa suatu campuran yang sesederhana mungkin dan maksimum terdiri atas tiga komponen. Angka banding campuran dinyatakan dalam bagian volum sedemikian hingga volum totalnya adalah 100.

#### 3. Bejana pemisah

Bejana harus tertutup rapat, untuk mencegah penguapan eluen dari permukaan pelat, bejana harus dijenuhkan dengan uap eluen dengan cara meletakkan kertas saring di seluruh dinding sebelah dalam bejana dan membiarkannya sampai seluruh kertas saring dibasahi dengan uap eluen. Tingkat kejenuhan bejana dengan eluen

mempunyai pengaruh yang nyata pada pemisahan dan letak noda pada kromatogram.

4. Awal dan jumlah cuplikan

Penotolan dilakukan dengan menggunakan kapiler yang berukuran 1 $\mu$ l, 2 $\mu$ l, 5 $\mu$ l, atau 10 $\mu$ l tergantung dari kebutuhan. Jarak antara satu bercak awal dengan bercak awal yang lain sekurang – kurangnya 10 mm.

5. Pengembangan / eluasi

Pengembangan atau eluasi ialah proses pemisahan campuran akibat fase gerak atau pelarut pengembang merambat naik melalui pelat / lapisan tipis. Jarak pengembangan normal yaitu jarak antara garis awal penotolan dan garis akhir pengembangan adalah 100 mm.

Berdasarkan arah pengembangan, ada beberapa macam cara pengembangan, yaitu :

- Pengembangan naik (ascending)

Cara ini paling umum digunakan, arah pengembangan keatas. Gerak eluen lambat karena dipengaruhi gaya gravitasi. Hal tersebut justru menguntungkan karena dapat dicapai kesetimbangan partisi yang lebih sempurna sehingga akan didapat noda yang kompak dan terpisah dengan baik.

- Pengembangan turun (descending)

Cara ini sering digunakan untuk kromatografi kertas, tetapi jarang digunakan untuk kromatografi lapis tipis.

- Pengembangan dua dimensi atau pengembangan ganda

Cara ini merupakan salah satu keuntungan KLT bila dibandingkan dengan kromatografi kolom. Disini dilakukan dua kali pengembangan dengan eluen yang sam atau berbeda. Arah gerakan eluen naik dimana pengembangan pertama arahnya tegak lurus dengan pengembangan kedua. Cara ini digunakan untuk memisahkan zat yang mempunyai harga Rf yang sangat berdekatan atau menumpuk.

#### 6. Deteksi noda

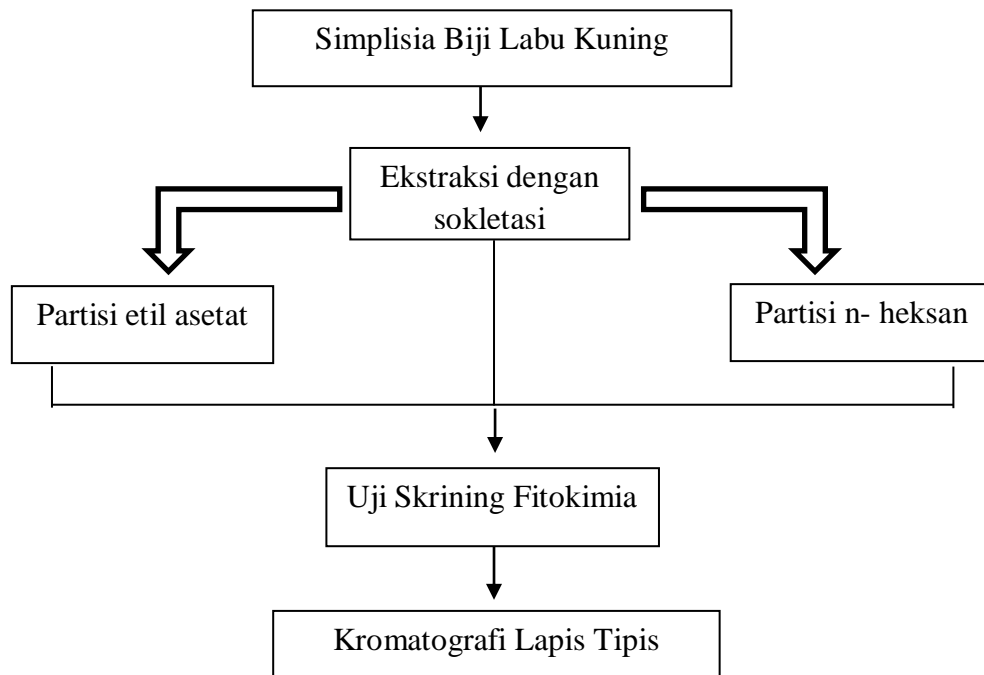
Jika zat yang dipisahkan sudah berwarna, maka noda hasil pemisahana akan Nampak dengan sendirinya. Tetapi jika zat yang dipisahkan tidak berwarna maka harus dilakukan deteksi noda. Yang paling sederhana adalah deteksi dengan menggunakan sinar UV gelombang pendek 256 nm atau gelombang panjang 365 nm. Apabila dengan sinar UV, noda tidak dapat terdeteksi maka harus dicoba dengan reaksi kimia yaitu menyemprot pelat dengan pereaksi tertentu sehingga terjadi noda yang berwarna.

#### 7. Angka Rf

Angka Rf berkisar antara 0,00 sampai 1,00 sedangkan harga Rf ialah Rf dikalikan 100 (factor h), menghasilkan nilai dengan interval 0 sampai 100. Harga Rf dipengaruhi oleh beberapa factor, namun jika semua variable dikendalikan, Rf cukup konstan pada kondisi yang disamakan. Tiap komponen mempunyai harga Rf yang

khas. Komponen terpisah baik jika harga  $R_f$  berbeda minimal  
0,1(Soeharsono,M.,1989).

## 2.6.Kerangka Konsep



## 2.7.Kerangka Teori

Pada penelitian ini digunakan simplisia biji labu kuning (*Curcubita moschata*) yang diambil dari tempat pengolahan biji labu kuning yang berada di Yogyakarta. Simplisia biji labu kuning kemudian diambil ekstraknya dengan metode sokletasi menggunakan pelarut etanol 70%, kemudian hasil ekstrak etanol 70% dipartisi dengan pelarut n-heksan dan pelarut etil asetat. Pada tahap selanjutnya dilakukan proses identifikasi yang meliputi identifikasi awal secara skrining fitokimia dengan penambahan pereaksi Lieberman-Burchard hingga diperoleh hasil positif terbentuknya endapan merah yang secara bertahap berubah menjadi biru. Pada tahap akhir yakni dilakukan identifikasi senyawa fitosterol dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis dengan penambahan pereaksi warna Lieberman-Burchard yang mana hasil positif ditunjukkan dengan adanya noda berwarna hijau biru.